

**VALIDACION DE UNA METODOLOGIA ANALITICA PARA LA
DETERMINACION DEL CONTENIDO DE HIERRO EN MUESTRAS DE
SULFATO DE ALUMINIO GRANULADO TIPO B, POR MEDIO DE LA
ESPECTROSCOPIA DE ABSORCION ATOMICA**

ALEJANDRO TORRES AGUIRRE

TRABAJO DE GRADO

Requisito parcial para optar al titulo de tecnólogo químico

DIRECTOR DEL PROYECTO

OLGA INES VALLEJO

UNIVERSIDAD TECNOLOGICA DE PEREIRA

FACULTAD DE TECNOLOGIAS

ESCUELA DE TECNOLOGIA QUIMICA

PEREIRA / RISARALDA

2009

TABLA DE CONTENIDO

	Pág.
DEFINICIONES	
JUETIFICACION	9
ANTECEDENTES	13
1 OBJETIVOS	15
1.1. OBJETIVO GENERAL	15
1.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS	15
2. ASPECTOS GENERALES	17
2.1. SULFATO DE ALUMINIO	17
2.1.1 <i>ESPECIFICACION EL MATERIAL</i>	17
2.1.2 <i>REQUISITOS FISICOS</i>	18
2.1.3. <i>REQUISITOS QUIMICOS</i>	18
3. MARCO TEORICO	20
3.1. GENERALIDADES SOBRE VALIDACION	20
3.1.1 <i>¿QUE ES LA VALIDACION DE METODOS?</i>	22
3.1.2 <i>¿POR QUE ES NECESARIA LA VALIDACION DE METODOS?</i>	22
3.1.3 <i>¿CUANDO DEBEN VALIDARSE LOS METODOS?</i>	23
3.1.4 <i>¿QUIEN REALIZA LA VALIDACION DE METODOS?</i>	23

3.2	ESPECTROMETRIA DE ABSORCION ATOMICA	25
3.2.1.	<i>PRINCIPIO</i>	25
3.2.2.	<i>FUNDAMENTO</i>	25
3.2.3.	<i>INSTRUMENTACION</i>	27
3.2.4.	<i>APLICACIONES</i>	29
3.2.5	<i>INTERFERENCIAS</i>	32
4.	METODOLOGIA	37
4.1	CONDICIONES DE TRABAJO	37
5.	DATOS EXPERIMENTALES	40
5.1.	MATERIALES	40
5.1.1.	<i>REACTIVOS</i>	40
5.1.2.	<i>EQUIPOS</i>	41
5.1.3.	<i>MATERIAL DE VIDRIO</i>	41
5.2	PREPARACION DE SOLUCIONES MADRE	42
5.3	PREPARACION DE PATRONES	42
5.4	MUESTRAS DE ANALISIS	44
5.4.1	<i>PREPARACION DE LAS MUESTRAS NATURALES M1 Y M2</i>	45
5.4.2	<i>PREPARACION DE LAS SOLUCIONES ESTANDAR 0,9C Y 0,09C</i>	47
5.4.3	<i>PREPARACION DE LAS SOLUCIONES ENRIQUECIDAS M1+A1 y M2+A2</i>	48
6.	RESULTADOS Y ANALISIS	52
6.1	CURVAS DE CALIBRACION DEL METODO	52
6.1.1	<i>MEDIA DE LOS BLANCOS</i>	69
6.1.2	<i>DESVIACION ESTANDAR PARA LOS BLANCOS</i>	70
6.1.3	<i>LIMITE DE DETECCION DEL METODO</i>	70

6.1.4	<i>LIMITE DE CUANTIFICACION DEL METODO</i>	71
6.1.5	<i>CALCULO DE LA EXACTITUD</i>	72
6.1.6	<i>SENSIBILIDAD</i>	74
7.	CONCLUSIONES	76
8.	RECOMENDACIONES	78
	BIBLIOGRAFIA	79

LISTA DE TABLAS

- Tabla 1: Requisitos químicos del sulfato de aluminio.
- Tabla 2: Datos para la curva de calibración número 1 del método
- Tabla 3: Datos para la curva de calibración número 2 del método.
- Tabla 4: Absorbancias obtenidas en el análisis de los 6 lotes.
- Tabla 5: Concentraciones en mg/L de hierro obtenidas en el análisis de los 6 lotes.
- Tabla 6: Concentraciones en mg/L de hierro corregidas por el factor de dilución.
- Tabla 7: Tabulación de los datos de concentración de hierro en mg/L, para el análisis estadístico por parte del Software Validar 1.1.
- Tabla 8: Prueba para verificar si las desviaciones estándar son aceptables.
- Tabla 9: Cálculo de la sumatoria de las columnas L y la sumatoria de las columnas x para la solución estándar 0,9C.
- Tabla 10: Datos para la evaluación de la recuperación de la adición estándar A1.
- Tabla 11: Datos para la evaluación de la recuperación de la adición estándar A2.
- Tabla 13: Resumen de los atributos del método.

DEFINICIONES

Recuperación

La recuperación es la capacidad que tiene un procedimiento analítico para determinar cuantitativamente una especie química que ha sido adicionada a una muestra.

Varianza

Medida de dispersión, igual a la suma de los cuadrados de las desviaciones de las observaciones con respecto a su promedio, dividido por el número de observaciones menos uno, la cual expresa que cuanto mayor sea esta medida, menos representativa de la realidad será la media de dicha variable.

Media

La media es el promedio aritmético de las observaciones, o sea, el cociente entre la suma de todos los datos y el número de ellos. Se puede decir entonces, que la media es una forma de resumir la información de una distribución suponiendo que cada observación tendría la misma cantidad de la variable.

Desviación estándar

La desviación estándar, también conocida como desviación típica, es una medida de dispersión usada en estadística que nos dice cuánto se desvían los datos de su media, o sea nos dice cuanto tienden a alejarse los valores puntuales del promedio en una distribución.

Límite de detección

El límite de detección es la mínima concentración de analito que se puede detectar en una muestra, pero no necesariamente cuantificar bajo las condiciones estipuladas para el ensayo.

Límite de cuantificación

El límite de cuantificación es la mínima concentración de un analito que se puede determinar con aceptable repetibilidad y exactitud bajo las condiciones estipuladas para un ensayo".

Inexactitud

La inexactitud es el porcentaje de error entre el valor teórico del analito

adicionado a cada una de las muestras y el valor real.

Exactitud

La exactitud es el grado aproximación entre un valor obtenido experimentalmente y un valor real aceptado; normalmente se expresa en términos de error; se calcula promediando las inexactitudes y haciendo la diferencia con el 100%, que es el valor máximo e exactitud.

Sensibilidad

La sensibilidad es una medida del factor de respuesta del instrumento como una función de la concentración del analito. Normalmente se mide como la pendiente de la curva de calibración del método. [1]

JUSTIFICACION

El análisis se considera un proceso mediante el cual se obtiene información o resultados a partir de los cuales se toman decisiones. Cada día se realizan millones de mediciones analíticas en miles de laboratorios alrededor del mundo en los ámbitos más variados, como por ejemplo, el análisis de productos manufacturados, análisis medio-ambientales, análisis clínicos, análisis forenses, análisis químicos y físicos, entre otros.

En todos ellos se requiere una confianza en los resultados obtenidos. La validación de las metodologías analíticas, junto con otras actividades encaminadas al aseguramiento de la calidad, permiten conseguir la calidad, otorgando la confianza necesaria, a la vez que confieren un grado elevado de reproducibilidad entre los resultados de los análisis realizados.

Delante de un problema analítico determinado, idealmente el laboratorio debería acordar con el usuario de los resultados, los requisitos analíticos que se precisan. El responsable de la expedición debe garantizar que el resultado sea trazable y con un nivel de precisión suficientemente elevado para asegurar que el parámetro cumple con la normativa. El responsable del laboratorio sabe también que deberá utilizar un método analítico que tenga un límite de cuantificación por debajo del valor mínimo permitido. Por lo tanto, los requisitos analíticos para un uso específico determinan los parámetros o criterios de

calidad del método a utilizar, entre los cuales figuran la exactitud, la sensibilidad, el límite de detección, el límite de cuantificación, al igual que la representatividad en la toma de muestras.

La validación de métodos analíticos permite determinar las características de operación, ventajas, limitaciones, confianza, y seguridad del método analítico y la calidad de los resultados, así también como disminuye el número de fallas y repeticiones. [2]

La empresa Química Integrada S.A. produce sulfato de aluminio a partir de bauxita, fundamentando su proceso de manufactura en la norma de calidad ISO 9001 versión 2000, lo cual garantiza un alto grado de calidad en sus productos (Bauxita y diferentes formas de sulfato de aluminio respectivamente), los cuales son analizados por el laboratorio de análisis de aguas y alimentos de la Universidad Tecnológica de Pereira. Debido a que el laboratorio no cuenta hasta el momento con una metodología validada para la determinación del contenido de hierro en muestras de sulfato de aluminio granulado tipo B por medio de la espectroscopia de absorción atómica (EAA), es necesario establecer una validación para este método con el propósito de que el laboratorio pueda garantizar que éste tiene las capacidades de rendimiento consistentes con las requeridas por la aplicación, lo cual le permite brindar un servicio de la más alta calidad, acorde con los estándares manejados por su cliente (la empresa Química Integrada S.A).

Es por esto que el presente trabajo pretende establecer la validación de la metodología analítica utilizada en el Laboratorio e Análisis de Aguas y Alimentos de la Universidad Tecnológica de Pereira para la determinación del contenido de hierro en muestras de sulfato de aluminio granulado tipo B, provenientes de la empresa Química Integrada S.A.

El sulfato de aluminio ha sido utilizado históricamente para tratar todo tipo de aguas, ya sea para el consumo humano como para mejorar la calidad de los efluentes industriales o cloacales, en el encolado de papel, como mordiente en tintorerías y otros usos.

El sulfato de aluminio con hierro posee la gran ventaja de actuar con dos cationes y a su vez incorpora una cantidad de sólidos en suspensión del orden de uno y medio porcentual que le confiere mayor eficiencia y más amplios rangos de operación. La relación costo-rendimiento real del sulfato de aluminio enriquecido con hierro en todo tipo de condiciones es imbatible.

La importancia del análisis del hierro presente en el sulfato de aluminio radica en que un índice elevado de este metal en el sulfato de aluminio no es recomendable, esto se debe a que éste producto es ampliamente utilizado en la potabilización del agua para consumo humano, por lo que un exceso de hierro proveniente del sulfato de aluminio puede ser transferido al agua que se ha de tratar con este producto, lo cual propiciaría que los valores normales de este

metal en el agua se elevaran mas allá de lo normal, traducándose en un mayor gasto (de dinero) por parte de la planta de tratamiento con el fin de controlarlo.

ANTECEDENTES

La validación de un método es un proceso riguroso que dependiendo de la técnica analítica a la que pertenezca (el método), la matriz, el analito, la cantidad de parámetros establecidos y de la logística empleada para su desarrollo, puede requerir un tiempo más o menos considerable. [2]

Dentro de los trabajos similares que se han desarrollado en el laboratorio de aguas y alimentos de la universidad tecnológica se destacan:

- ❖ VALIDACION PARA EL ANALISIS DE pH, HIERRO, ALCALINIDAD, SOLIDOS SUSPENDIDOS TOTALES Y ALUMINIO, PARA EL LABORATORIO DE AGUAS Y ALIMENTOS DE LA UNIVERSIDAD TECNOLOGICA DE PEREIRA, (en el cual se incluyen los análisis de hierro y aluminio por espectroscopia de absorción atómica).
- ❖ El proyecto dedicado a DOCUMENTAR Y REVALIDAR LOS PROCEDIMIENTOS PARA EL ANALISIS DE ALCALINIDAD TOTAL Y DUREZA TOTAL EN AGUA, PARA EL LABORATORIO DE AGUAS Y ALIMENTOS DE LA SECRETARIA DE SALUD DEL RISARALDA, (empleando el Software Kalibo),
- ❖ La VALIDACION DE OCHO METODOLOGIAS ANALITICAS MEDIANRTE EL EMPLEO DEL SOFTWARE KALIBO VERSION 1,2a EN EL LABORATORIO DE AGUAS Y ALIMENTOS DE LA UNIVERSIDAD

TECNOLOGICA DE PEREIRA, (entre ellas níquel por espectroscopia de absorción atómica).

Se pretende entonces con este trabajo desarrollar metodologías de validación para el ensayo de hierro en muestras de sulfato de aluminio, usando una metodología que ya se ha aplicado a otros ensayos que se llevan a cabo en el laboratorio, con lo cual determina las características de operación, ventajas, limitaciones, confianza, seguridad del método analítico y calidad de sus resultados, así como disminuir el número de repeticiones.

1 OBJETIVOS

1.1 OBJETIVO GENERAL

Validar una metodología analítica para la determinación del contenido de hierro en muestras de sulfato de aluminio granulado tipo B, por medio de la espectroscopia de absorción atómica.

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ❖ Definir el rango de concentración para el desarrollo de la curva de calibración encaminada a la determinación del contenido de hierro en muestras de Sulfato de Aluminio Granulado Tipo B por medio de la Espectroscopia de Absorción Atómica.
- ❖ Obtener de forma experimental y para las condiciones particulares del Laboratorio de Aguas y Alimentos de la Universidad Tecnológica de Pereira los valores de los parámetros estadísticos tales como: media de los blancos, desviación estándar para el blanco, límite de detección, límite de cuantificación, exactitud y sensibilidad por medio del Software Kalibo 1.2a de Validación de Métodos Químicos, desarrollado por Saúl Peñaranda; químico del Instituto Nacional de Salud.

- ❖ Determinar experimentalmente si la metodología analítica empleando la Espectroscopia de Absorción Atómica, arroja resultados consistentes para la determinación del contenido de hierro en muestras de Sulfato de Aluminio Granulado Tipo B.

- ❖ Reportar al responsable del Laboratorio de Aguas y Alimentos de la Universidad Tecnológica de Pereira los resultados obtenidos en cada uno de los análisis realizados de una manera ordenada y coherente.

- ❖ Desarrollar para el Laboratorio de Aguas y Alimentos de la Universidad Tecnológica de Pereira el análisis de los resultados obtenidos en cada uno de los análisis realizados.

2 ASPECTOS GENERALES

2.1 SULFATO DE ALUMINIO

Los términos “alumbre para filtro”, “alumbre para fabricantes de papel” y “alumbre comercial” hacen referencia a la misma sustancia química. El sulfato de aluminio, producido en grandes cantidades tiene la formula $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$, en donde n tiene aproximadamente 14 aguas de cristalización en lugar de 18 que es la verdadera forma cristalina.

2.1.1 ESPECIFICACIÓN DEL MATERIAL

El sulfato de aluminio se prepara a partir de hidróxido de aluminio, trihidrato de alúmina o minerales aluminíferos, tales como la arcilla y la bauxita por medio de la cual obtiene el producto la empresa Química Integrada S.A; para lo cual inicialmente el mineral de aluminio es molido muy finamente y posteriormente se le realiza una digestión con ácido sulfúrico a temperaturas elevadas. Los materiales insolubles se retiran mediante sedimentación y la solución resultante se decanta y se vende en forma líquida o se deja cristalizar en un producto sólido, seco e hidratado.

2.1.2 REQUISITOS FÍSICOS

El ácido sulfúrico empleado en la reacción no deberá ser residual. El sulfato de aluminio en estado sólido deberá estar seco, limpio, en forma de terrón, grano o polvo. El sulfato de aluminio en agua corresponde a una solución saturada del mismo.

2.1.3 REQUISITOS QUÍMICOS

Los requisitos químicos de sulfato de aluminio en cuanto al contenido de Al_2O_3 soluble, hierro soluble, material insoluble y basicidad están contenidos en la tabla 1.

Tabla 1: Requisitos químicos del sulfato de aluminio.

SULFATO	GRADO PAPEL		TIPO A		TIPO B	
Requisitos	Sólido	Solución de sulfato de aluminio	Sólido	Solución de sulfato de aluminio	Sólido	Solución de sulfato de aluminio
% Al_2O_3 Mínimo	17,0	8,2	17,0	8,0	15,2	7,3

Hierro como Fe₂O₃	0,008	0,004	0,75	0,4	2,0	1,2
% Materia Insoluble	0,10	0,05	0,50	0,10	8,0	0,1
% Al₂O₃ (b) Mínimo	0,05	0,025	0,050	(1)	0,05	(1)

(1) Acordado entre el vendedor y el comprador. [3]

Como se observa dentro de los requisitos químicos de mayor importancia para el sulfato de aluminio se encuentra el contenido de hierro, lo que muestra la importancia para la presente validación (hierro como Fe₂O₃, en el sulfato de aluminio sólido tipo B).

3 MARCO TEORICO

3.1 GENERALIDADES SOBRE VALIDACION

Se requieren métodos analíticos fiables para cumplir con las normativas nacionales e internacionales en todas las áreas de análisis. Por lo tanto, está admitido internacionalmente que un laboratorio deba tomar las medidas pertinentes para asegurarse de que es capaz de producir, y de que produce efectivamente, datos con el nivel necesario de calidad. Dichas medidas comprenden:

- ❖ Utilización de métodos de análisis validados
- ❖ Utilización de procedimientos internos de control de calidad
- ❖ Participación en ensayos de aptitud; y
- ❖ Obtención de la certificación según una norma internacional, habitualmente ISO 17025.

Cabe resaltar que la certificación ISO 17025 concierne específicamente el establecimiento de la trazabilidad de las mediciones.

Así, la validación de métodos es un componente esencial de las medidas que un laboratorio debe implementar para producir datos analíticos fiables. Otros aspectos de lo anteriormente dicho han sido tratados por el Grupo de Trabajo de la IUPAC sobre Armonización de Métodos de Garantía de Calidad para Laboratorios Analíticos, en particular mediante la elaboración de protocolos

sobre los estudios (colectivos) de rendimiento de los métodos y control interno de calidad.

Se han elaborado varios protocolos y directrices de validación de métodos e incertidumbres, principalmente por parte de AOAC INTERNATIONAL (Asociación de Químicos Analíticos Oficiales), la Conferencia Internacional de Armonización (ICH) y en documentos del Eurachem:

- ❖ El manual de estadística de la AOAC, que recomienda llevar a cabo estudios en un solo laboratorio antes de realizar ensayos colectivos.
- ❖ El texto¹ y la metodología¹ de la ICH, que prescriben los requisitos mínimos del estudio de validación para las pruebas utilizadas para presentación de medicamentos para su aprobación.
- ❖ Cuantificación de la incertidumbre en las mediciones analíticas (2000).
- ❖ La adecuación al propósito de los métodos analíticos: guía de laboratorio para la validación de métodos y temas relacionados (1998). [4]

3.1.1 ¿QUE ES LA VALIDACION DE METODOS?

Es el proceso que se sigue para definir un requisito analítico y confirmar que el método considerado tiene capacidades de rendimiento consistentes con las

requeridas por la aplicación. La validación de métodos ha tendido a concentrarse en el proceso de evaluar los parámetros de rendimiento.

Está implícito que los estudios para determinar los parámetros de rendimiento se llevan a cabo mediante equipos que cumplen con las especificaciones, funcionan correctamente y están adecuadamente calibrados. Igualmente, el operador que realiza los estudios debe ser competente en el campo de trabajo en estudio y debe contar con suficientes conocimientos respecto al trabajo como para poder tomar decisiones apropiadas a partir de las observaciones realizadas a medida que el estudio progrese.

3.1.2 ¿POR QUE ES NECESARIA LA VALIDACION DE METODOS?

Si no se puede confiar en el resultado de un ensayo, entonces este tiene poco valor y daría lo mismo no realizarlo, por otra parte el costo de estas mediciones es alto y se generan costos adicionales a partir de decisiones tomadas con base a resultados errados.

La validación de métodos permite a los químicos demostrar que un método es "apropiado", y que el resultado analítico es idóneo para el propósito deseado y es confiable para que cualquier decisión basada en él, pueda tomarse con total confianza.

3.1.3 ¿CUANDO DEBEN VALIDARSE LOS METODOS?

Un método debe validarse cuando sea necesario verificar que sus parámetros de rendimiento son adecuados para usarlos en un problema analítico específico.

Por ejemplo en las siguientes circunstancias:

- ❖ El desarrollo de un nuevo método para un problema específico.
- ❖ La revisión de un método ya establecido con el fin de incorporar mejoras en él o con el objetivo de ampliarlo para un nuevo problema.
- ❖ Cuando el control de calidad indique que un método ya establecido está cambiando con el tiempo.
- ❖ Cuando un método ya establecido sea usado en un laboratorio diferente o con diferentes analistas o instrumentos.
- ❖ Para demostrar la equivalencia entre dos métodos; por ejemplo, un método nuevo y el normalizado.

3.1.4 ¿QUIEN REALIZA LA VALIDACION DE METODOS?

El laboratorio que usa un método es el responsable de garantizar que esté adecuadamente validado y de realizar, en caso necesario, trabajos adicionales para complementar los datos existentes. Existe mucha literatura y protocolos sobre la validación de métodos mediante estudios en colaboración; sin embargo, cuando a un laboratorio le resulte inconveniente o imposible realizar un estudio en colaboración, surgen una serie de interrogantes:

- ❖ ¿Pueden los laboratorios validar métodos por su cuenta? Y, de ser así, ¿cómo?
- ❖ ¿Los métodos así validados serán reconocidos por otros laboratorios?
- ❖ ¿Qué tipo de reconocimiento se puede esperar para métodos internos usados en un medio regulador?

El laboratorio contestará estas preguntas decidiendo qué grado de validación requiere y qué parámetros de rendimiento del método debe caracterizar con miras a validarlo. Este es un proceso costoso e inevitablemente puede verse restringido por problemas de tiempo y costos. Dicho laboratorio deberá demostrar finalmente que los criterios de rendimiento y de confirmación del método son adecuados en:

- ❖ Las tolerancias requeridas de todas las mediciones realizadas como parte del método (volumen, temperatura, masa, etcétera).
- ❖ Las formas de los analitos medidos, incluyendo su especiación.
- ❖ Que el efecto de las interferencias haya sido ampliamente identificado y cuantificado.
- ❖ Que se hayan identificado las fuentes significativas de error y los mecanismos adecuados para controlarlas. [5]

3.2 ESPECTROSCOPIA DE ABSORCION ATOMICA

3.2.1 PRINCIPIO

Los principios teóricos de la absorción atómica fueron establecidos en 1840 por Gustav Robert Kirchhoff y Robert Wilhelm Bunsen en sus estudios del fenómeno de autoabsorción en el espectro de los metales alcalinos y alcalinotérreos.

La base de la espectroscopia de absorción atómica (EAA), la entregó Kirchhoff al formular su ley general: “cualquier materia que pueda emitir luz a una determinada longitud de onda también absorberá luz a esa longitud de onda”. El significado práctico de esto fue recién desarrollado en 1955 por el australiano Walsh, apareciendo los primeros instrumentos comerciales en 1960.

3.2.2 FUNDAMENTO

El átomo consiste en un núcleo de electrones que llenan ciertos niveles cuánticos. La configuración electrónica más estable de un átomo corresponde a la de menor contenido energético conocido como “estado fundamental”.

Si un átomo que se encuentra en un estado fundamental absorbe una determinada energía, este experimenta una transición hacia un estado particular de mayor energía. Como este estado es inestable, el átomo regresa a su estado fundamental inicial, emitiendo una radiación de una determinada frecuencia. La frecuencia de la energía radiante emitida corresponde a la diferencia de energía

entre el estado excitado (E_1) y el estado fundamental (E_0) como se encuentra descrito en la ecuación de Plank:

$$E = E_1 - E_0 = h\nu = \frac{hc}{\lambda}$$

Donde:

h = Constante de Planck = $6,626069 \times 10^{-34}$ Julios/segundo.

ν = Frecuencia, dada en (segundo^{-1}).

c = Velocidad de la luz = $2,997925 \times 10^{-3}$ metros \cdot segundo

λ = Longitud de onda, dada en (metros).

Según la teoría atómica, el átomo puede alcanzar diferentes estados (E_1 , E_2 , E_3, \dots) y de cada uno de ellos emitir una radiación (λ_1 , λ_2 , λ_3, \dots) característica, obteniéndose así un espectro atómico, caracterizado por presentar un gran número de líneas discretas. En absorción atómica es relevante solamente aquella longitud de onda correspondiente a una transmisión entre el estado fundamental de un átomo y el primer estado excitado y se conoce como longitud de onda de resonancia.

De la ecuación de Plank, se tiene que un átomo podrá absorber solamente radiación de una longitud de onda (frecuencia) específica. En absorción atómica interesa medir la absorción de esta radiación de resonancia al hacerla pasar a través de una población de átomos libres en estado fundamental. Estos

absorben parte de la radiación en forma proporcional a su concentración atómica.

La relación entre absorción y concentración se encuentra definida por la ley de Beer-Lambert. Como la trayectoria de la radiación permanece constante y el coeficiente de absorción es característico para cada elemento, la absorbancia es directamente proporcional a la concentración de las especies absorbentes.

3.2.3 INSTRUMENTACION

Los componentes básicos de un equipo de absorción atómica son:

- ❖ Fuente radiante.
- ❖ Atomizador.
- ❖ Monocromador.
- ❖ Detector.
- ❖ Amplificador.
- ❖ Sistema de presentación.

La fuente radiante más común para la medición de absorción atómica es la lámpara de cátodo hueco, que consiste en un cilindro relleno con un gas inerte dentro del cual se encuentra el cátodo (construido de metal a analizar) y el ánodo. Al aplicar un cierto potencial a través de los electrodos, esta fuente emite el espectro atómico del metal del cual está construido el cátodo.

En la EAA se utilizan atomizadores con y sin llama para producir átomos libres del metal en el haz de la radiación. El atomizador con llama está compuesto de un nebulizador y un quemador. La solución de la muestra es convertida primero a un fino aerosol, y luego llevada a la llama que entrega la energía suficiente para evaporar el solvente y descomponer los compuestos químicos resultantes en átomos libres en su estado fundamental.

Las mezclas de gases más usados para producir la llama adecuada son: aire/propano, aire/acetileno y óxido nítrico/acetileno.

Generalmente, la elección dependerá de la temperatura requerida para la disociación de los compuestos y de las características químicas del elemento a determinar.

En los atomizadores de llama-atomización electrotérmica con horno de grafito el vapor atómico se genera en un tubo de grafito calentado electrónicamente, en cuyo interior se ubica la muestra. Estos atomizadores presentan diversas ventajas, como una alta eficiencia en generar vapor atómico, permite el empleo de pequeños volúmenes de muestra y análisis directo de muestras sólidas.

Los espectrofotómetros de absorción atómica poseen generalmente monocromadores de red que permiten aislar una línea de resonancia del espectro emitido por la lámpara de cátodo hueco. Como detector se emplea un fotomultiplicador que produce una corriente eléctrica la cual es proporcional a la intensidad de la línea aislada por el monocromador. Un amplificador selectivo

amplifica la señal pasando luego a un dispositivo de lectura que puede ser un voltímetro digital, un registrador u otros.

3.2.4 APLICACIONES

La EAA constituye una de las técnicas más empleadas para la determinación de más de 60 elementos en una gran variedad de muestras. Entre algunas aplicaciones tenemos el análisis de: aguas, muestras geológicas, muestras orgánicas, metales y aleaciones, petróleo y sus subproductos; y de una amplia gama de muestras de industrias químicas y farmacéuticas.

La espectroscopia de absorción atómica con llama es el método más empleado para la determinación de metales en una amplia variedad de matrices. Su popularidad se debe a su especificidad, sensibilidad y facilidad de operación. En este método la solución muestra es directamente aspirada a una llama de flujo laminar. La llama tiene como función generar átomos en su estado fundamental, de los elementos presentes en la solución muestra. Temperaturas cercanas a los 1500 °C - 3000 °C son suficientes para producir atomización de un gran número de elementos, los que absorben parte de la radiación proveniente de la fuente luminosa.

Desde el inicio, en 1955, de la espectroscopia de absorción atómica como método de análisis, hubo un nuevo ímpetu de desarrollar sistemas de atomización con llama, a demás de existir un interés continuo en conocer el

mecanismo mediante el cual la solución muestra es convertida en vapor atómico en la llama. El resultado fue el desarrollo de un quemador con un cabezal de ranura, obteniéndose de este modo un camino óptico alargado a través de la llama, lo que proporciona una mayor sensibilidad del método. Estos quemadores emplean generalmente una cámara de premezclado de combustible/oxidante en combinación con un sistema para aspirar la solución muestra a la llama.

El número de átomos generados en su estado fundamental en la etapa de atomización, determinará la cantidad de radiación absorbida.

Diferentes tipos de cabezales son utilizados dependiendo del tipo de llama a emplear. Estos se construyen de titanio para darle una resistencia al calor y a la corrosión, siendo los más empleados los de 10 cm de ranura simple (llama acetileno/aire), 10 cm de ranura triple para soluciones con alto contenido de sólidos y cabezal de 5 cm. (llama acetileno/óxido nítrico).

El tiempo necesario para la atomización de una muestra dependerá de la velocidad de entrada de los gases en la llama y se expresa con la altura de la llama, de modo que la medición de la absorción se debe realizar en una zona en la que la atomización sea completa.

La llama debe ser en lo posible transparente, es decir, no debe absorber parte de la radiación proveniente de la lámpara. En general la llama debe poseer una alta eficiencia en la producción de átomos libres y ésta debe evitar también que

ocurran reacciones del elemento a determinar con productos de la combustión de los gases empleados o con otros componentes de la muestra.

La llama aire/acetileno es la más empleada, debido a que ofrece para muchos elementos un medio ambiente y temperatura suficientes para la atomización.

La llama oxido nitroso/acetileno (2900-3000 °C) permite la determinación de aquellos elementos que no permite determinar la llama aire/acetileno como el Al, Si, Ti, entre otros. Como producto de su baja velocidad de combustión, esta llama energética ofrece un medio ambiente químico, térmico y óptimo favorable, pero posee desventajas: numerosos elementos son ionizados y muestran una emisión relativamente fuerte.

La llama hidrogeno/argón es usada para la determinación de As, Se, Cd y Zn. Su gran ventaja es su alta transparencia en el ultravioleta, ideal para la determinación de As y Se. Sin embargo, se debe contar con grandes interferencias, debido a la menor temperatura de la llama.

En la espectroscopia de la absorción atómica la concentración de un elemento en una muestra se determina por comparación de la absorbancia de la solución muestra con la absorbancia de soluciones patrón de concentración conocida. Si cualquier constituyente de la muestra altera uno o más pasos en el proceso de formación de átomos en su estado fundamental en la llama, llevara a un error en la medición de la concentración.

3.2.5 INTERFERENCIAS

Se considera aquí la influencia de diversos factores sobre la absorbancia atómica del elemento a determinar y la forma de evitar dichos efectos. Las interferencias que se pueden producir en la espectroscopia de absorción atómica se clasifican en: físicas, químicas y espectrales.

3.2.5.1 INTERFERENCIAS FÍSICAS:

Este tipo de interferencias está relacionado con la efectividad con que la solución es transportada a la llama y son causadas por diferencias en las propiedades físicas de las soluciones: viscosidad, tensión superficial o presión de vapor.

Un ejemplo de estas interferencias se observa en la determinación de Mg y Cu en presencia de ácido fosfórico. A mayor concentración de H_3PO_4 la viscosidad de la solución aumenta, disminuyendo la velocidad de aspiración de ella y una fracción menor llega a la llama, produciéndose una absorbancia menor de la muestra.

También la presencia de solventes orgánicos produce este tipo de interferencias debido a un aumento en la eficiencia de la nebulización (menor viscosidad y menor tensión superficial), lo que produce un aumento de la absorbancia.

Una forma de compensar este tipo de interferencia es preparar las soluciones estándar con los mismos componentes de la matriz de la solución problema.

3.2.5.2 INTERFERENCIAS QUÍMICAS

Interferencia química es cualquier alteración en el número total de átomos libres formados por unidad de volumen debido a la formación de compuestos químicos termoestables. Las causas más comunes de éstas son:

i. Disociación incompleta de la molécula formada o formación de una sal difícil de fundir.

El efecto del fosfato en la determinación de calcio es un ejemplo de este tipo de interferencia. El calcio con el fosfato forman el fosfato de calcio, el cual se transforma en pirofosfato de calcio, que es relativamente estable en una llama aire/acetileno. Así la cantidad de átomos libres de calcio generados en la llama será menor que la obtenida con una solución de calcio de igual concentración, pero sin presencia de fosfato, provocando una disminución de la señal.

Existen otros componentes refractarios que dan también una disminución de la señal de absorción del elemento de interés. Tal es el caso de silicatos, aluminatos y piro sulfatos de calcio, magnesio, estroncio y bario.

ii. Reacción espontánea de los átomos libres con otros átomos o radicales presentes en el medio ambiente.

Esta interferencia es causada por la formación de óxidos e hidróxidos u ocasionalmente carburos o nitruros, debido a la reacción de los átomos libres con los productos de la combustión de la llama. Aproximadamente unos 30 metales no se pueden determinar con llama aire/acetileno (ejemplo: aluminio, silicio, boro, elementos lantánidos, etc.). La magnitud de la interferencia va a depender del tipo de estequiometría de la llama.

Las interferencias químicas pueden ser minimizadas por las siguientes formas:

- ❖ Empleo de llamas con mayores temperaturas. Como ejemplo tenemos la llama acetileno/óxido nítrico, la que es capaz de descomponer totalmente los compuestos refractarios.
- ❖ Agregar a la solución muestra un elemento "buffer", el cual forma con el elemento interferente un compuesto más estable que con el elemento a determinar. El ejemplo más conocido es la adición de lantano o estroncio en la determinación de calcio en presencia de fosfato.
- ❖ Preparación de las soluciones estándar de modo tal que su composición sea lo más semejante con la de la solución problema. Esta alternativa es difícil de aplicar debido a que requiere un conocimiento completo de la muestra.

3.2.5.3 INTERFERENCIAS ESPECTRALES

En este tipo de interferencias, la radiación del elemento a determinar es directamente influenciada, existiendo interferencias espectrales de línea e interferencias espectrales de banda:

❖ **Las interferencias espectrales de línea** ocurren cuando hay superposición de dos líneas atómicas o cuando éstas no son resueltas por el monocromador.

Un ejemplo para el primer caso se tiene en la determinación de trazas de zinc en una matriz de hierro, debido a que la línea de absorción del hierro (213.86 nm) se superpone a la línea de resonancia del zinc (213.86 nm).

El empleo de lámparas multielementales fabricadas con una combinación inadecuada de elementos puede producir interferencias del segundo tipo, si dentro de la banda espectral del monocromador se encuentra una línea de resonancia de otro elemento junto a la del elemento a determinar.

En general este tipo de interferencias no son frecuentes debido a la naturaleza muy específica de la longitud de onda que se usa en espectroscopia de absorción atómica. Si se llegan a presentar se pueden eliminar seleccionando una segunda línea de resonancia del elemento de interés (probablemente se obtenga mayor sensibilidad o empleando una ranura del monocromador más angosta).

❖ **Las interferencias espectrales de banda** se producen debido a la absorción de la radiación por moléculas o radicales, y por dispersión de la radiación por sólidos. Para ambos efectos, que en principio son distintos, se emplea el término absorción de fondo. Aquí existe una pérdida de radiación no específica que lleva a absorbancias mayores que la absorbancia obtenida por el analito. La señal está compuesta por la absorción del elemento a determinar más la absorción no específica.

La absorción molecular ocurre cuando una especie molecular en el atomizador posee un perfil de absorción que se superpone al del elemento de interés. El espectro molecular del hidróxido de calcio muestra un máximo de absorción en la línea de resonancia del bario.

Este problema es más serio en la región espectral bajo los 250 nm, donde concentraciones altas de metales alcalinos y de otras sales muestran una alta absorción molecular.

La dispersión de la luz ocurre cuando partículas de sólidos causan una deflexión de parte de la radiación de la fuente fuera del eje del sistema monocromador-detector. Estos problemas son relevantes con muestras conteniendo altas concentraciones de elementos refractarios.

4 METODOLOGIA

4.1 CONDICIONES DE TRABAJO

Para el desarrollo de la presente validación es necesario la preparación de una curva de calibración que conste de como mínimo de cinco estándares de calibración (para la presente validación se realizaron dos curvas de calibración). Esta(s) curva(s) se usa(n) para obtener el valor de la pendiente que es el valor de la **sensibilidad** del método.

Los datos de la curva se ingresan en el **Software Kalibo 1.2a**, el cual realiza el análisis estadístico de datos y reporta el valor de pendiente, entre otros.

Es necesaria también la preparación de seis lotes conformados por:

- ❖ Dos blancos constituidos por agua desionizada más un volumen determinado de una solución de KCl al 25% y ácido clorhídrico concentrado (37%), para eliminar interferencias, denominadas BK1 y BK2 respectivamente.
- ❖ Dos patrones de 0,9C y 0,09C (donde C es el valor máximo de concentración permitido por la Norma Técnica Colombiana NTC 531 del 29 de noviembre 1995). [3]

- ❖ Dos muestras naturales de Sulfato de Aluminio Granulado Tipo B, denominadas M1 y M2 respectivamente.
- ❖ Dos muestras con adiciones conocidas, nombradas M1+A1 y M2+A2 respectivamente.

Estas cuarenta y ocho muestras representan seis lotes que deben ser analizados en días diferentes que pueden ser continuos o alternos, con una diferencia máxima de tres días entre un ensayo y otro (viernes-lunes).

Los resultados arrojados por el análisis mediante la espectroscopia de absorción atómica para estas cuarenta y ocho muestras son ingresados en el Software Kalibo el cual se apoya en el Software Validar 1.1 que proporciona los valores de los atributos del método tales como:

- ❖ Media de los blancos.
- ❖ Desviación estándar para el blanco.
- ❖ Límite de detección.
- ❖ Límite de cuantificación.
- ❖ Exactitud.
- ❖ Sensibilidad.

Nota: para el desarrollo de la presente validación se siguió el **Instructivo de Validación de Metodologías Analíticas** elaborado por el Laboratorio de Aguas y Alimentos de la Universidad Tecnológica de Pereira. [7]

5 DATOS EXPERIMENTALES

5.1 MATERIALES

A continuación se enumeran los materiales que fueron necesarios para la realización de la presente validación, entre los cuales se encuentran reactivos, equipos y material de vidrio.

5.1.1 REACTIVOS

- ❖ Agua desionizada.

- ❖ Solución de cloruro de potasio (KCl) al 25%:

Se disuelven 25 g cloruro de potasio, en agua desionizada, en un balón volumétrico de 100 ml y se afora a volumen.

- ❖ Acido clorhídrico (HCl), concentrado.

Densidad: 1190 kg/m³, (solución 37%).

Punto de fusión: 247 K (-26 °C).

Punto de ebullición: 321 K (48 °C).

Viscosidad: 1,9

- ❖ Solución patrón de hierro de 1000 mg/L.

5.1.2 EQUIPOS

- ❖ Espectrofotómetro absorción atómica (EAA).
- ❖ Lámpara de cátodo hueco de hierro.
- ❖ Estufa de calentamiento.
- ❖ Cabina de extracción de gases.
- ❖ Equipo de filtración al vacío.
- ❖ Balanza analítica de precisión.

5.1.3 MATERIAL DE VIDRIO

- ❖ Matraces aforados de 100, 250, 500, 1000 ml.
- ❖ Pipetas volumétricas de 5 y 10 ml.
- ❖ Beaker de 100 y 250 ml.
- ❖ Erlenmeyer con desprendimiento lateral.
- ❖ Bureta de 50 ml.
- ❖ Crisol gooch.

5.2 PREPARACION DE SOLUCIONES MADRE

- ❖ **Solución madre de 100 mg/L de hierro**

Esta solución se prepara tomando un balón volumétrico de 500 ml, al cual se le adiciona 50 ml de una solución patrón de hierro de 1000 mg/L y se afora a volumen con agua desionizada.

❖ **Solución madre 10 mg/L de hierro**

Se toman 50 ml de la solución madre de 100 mg/L en un balón volumétrico de 500 ml y se afora a volumen con agua desionizada.

5.3 PREPARACION DE PATRONES PARA LA CURVA DE CALIBRACION

Para la realización de la curva de calibración del método se procede a preparar la siguiente serie de patrones:

❖ **Patrones (2) de 0,0 mg/L (blancos)**

Dos blancos conformados por agua de desionizada mas los reactivos para eliminar las interferencias (2,0 ml de una solución de KCl al 25% y 1,0 ml de ácido clorhídrico al 37 %).

❖ **Patrón de 1,0 mg/L**

Se toman 10 ml de solución madre de 10 mg/L de hierro en un balón volumétrico de 100 ml, se adicionan 2,0 ml de solución de KCl al 25 % y 1,0 ml de ácido clorhídrico al 37 % y se afora.

❖ **Patrón de 2,0 mg/L**

Se toman 20 ml de solución madre de 10 mg/L de hierro en un balón volumétrico de 100 ml, se le adicionan 2,0 ml de solución de KCl al 25 % y 1,0 ml de ácido clorhídrico al 37 % y se afora.

❖ **Patrón de 4,0 mg/L**

Se toman 40 ml de solución madre de 10 mg/L de hierro en un balón volumétrico de 100 ml, se le adicionan 2,0 ml de solución de KCl al 25 % y 1,0 ml de ácido clorhídrico al 37 % y se afora.

❖ **Patrón de 5,0 mg/L (patrón de calibración)**

Se toman 50 ml de solución madre de 10 mg/L de hierro en un balón volumétrico de 100 ml, se le adicionan 2,0 ml de solución de KCl al 25 % y 1,0 ml de ácido clorhídrico al 37 % y se afora.

❖ **Patrón de 6,0 mg/L**

Se toman 60 ml de solución madre de 10 mg/L de hierro en un balón volumétrico de 100 ml, se le adicionan 2,0 ml de solución de KCl al 25 % y 1,0 ml de ácido clorhídrico al 37 % y se afora.

❖ **Patrón de 7,0 mg/L**

Se toman 70 ml de solución madre de 10 mg/L de hierro en un balón volumétrico de 100 ml, se le adicionan 2,0 ml de solución de KCl al 25 % y 1,0 ml de ácido clorhídrico al 37 % y se afora.

❖ Patrón de 8,0 mg/L

Se toman 80 ml de solución madre de 10 mg/L de hierro en un balón volumétrico de 100 ml, se le adicionan 2,0 ml de solución de KCl al 25 % y 1,0 ml de ácido clorhídrico al 37 % y se afora.

5.4 MUESTRAS DE ANALISIS

Tratamiento de la muestra

Inicialmente se debe eliminar la humedad de la muestra de sulfato de aluminio granulado tipo B, para lo cual se toma una cantidad representativa (aproximadamente 10 g) y se lleva a una estufa durante dos horas, posteriormente se deja enfriar en el desecador, después de lo cual se tritura finamente. Se toman por duplicado muestras con un peso de alrededor 2,0 g (registrando su peso exacto) en un beaker de 250 ml y se adiciona un poco de agua destilada caliente, se calienta otro poco para disolver la muestra, se agita por cinco minutos más, y finalmente se filtra al vacío en un erlenmeyer que debe contener 0,5 ml de ácido sulfúrico concentrado, y la solución resultante se afora a 500 ml en un balón volumétrico.

5.4.1 PREPARACION DE LAS MUESTRAS NATURALES M1 Y M2

Después de tratamiento de la muestra, se deben realizar las diluciones necesarias con el fin de que la concentración de las dos muestras que se deben

tomar se ubiquen dentro del rango de concentración de los patrones, para lo cual previamente se deben hacer los cálculos teóricos necesarios para posteriormente determinar la concentración real en mg/L de hierro en las muestras de sulfato de aluminio.

Cálculos teóricos

Teniendo en cuenta la concentración máxima permitida de Fe_2O_3 en el sulfato de aluminio granulado tipo B, regulada por la Norma Técnica Colombiana NTC 531 [3], la cual establece que esta no debe superar el 2,0 %. Sabiendo esto, se halla la concentración de hierro en mg/L en el sulfato de aluminio para una muestra hipotética que contiene el máximo porcentaje permitido de Fe_2O_3 .

Concentración teórica de hierro (Fe) en mg/L en el sulfato de aluminio granulado tipo B

$$C.Fe = \frac{2,0 \text{ g muestra}}{0,5 \text{ l}} \times \frac{2,0 \text{ g Fe}_2\text{O}_3}{100 \text{ g muestra}} \times \frac{1 \text{ mol Fe}_2\text{O}_3}{159,7 \text{ g Fe}_2\text{O}_3} \times \frac{111,7 \text{ g Fe}}{1 \text{ mol Fe}_2\text{O}_3} \times \frac{1000 \text{ mg Fe}}{1 \text{ g Fe}}$$

$$C.Fe = 55,9505 \text{ mg/L de Fe}$$

Ahora sabiendo que una muestra de sulfato de aluminio granulado tipo B, debe tener como máximo una concentración de aproximadamente 56 mg/L de hierro; se procede a realizar una curva de calibración apropiada para obtener la concentración real de hierro en las muestras sulfato de aluminio tomadas para

realizar esta validación, para lo cual se preparan una serie de patrones que cubran un rango de concentración en torno a los 56 mg/L; como por ejemplo: 20, 40, 50, 60, 70, y 80 mg/L.

Se optimizan los parámetros experimentales tales como la posición el quemador, alineación de la lámpara, relaciones de combustible-oxidante y velocidad de nebulización, según las instrucciones del analista del laboratorio; se aspira y se mide la absorbancia del blanco, los patrones de referencia y las muestras, después de lo cual se determina que la primera muestra tiene una concentración de 25,1880 mg/L de Fe, y la segunda muestra tiene una concentración de 27,0030 mg/L de Fe.

Posteriormente se preparan las muestras de sulfato de aluminio granulado tipo B, realizando las respectivas diluciones si es necesario.

Dilución de la muestra natural M1

La primera muestra denominada M1 con una concentración inicial de 25,1880 mg/L se prepara tomando 130,8 ml (con bureta), se adicionan 2,0 ml de una solución de KCl al 25 % y 1,0 ml de ácido clorhídrico al 37 % y se afora a 250 ml en un balón volumétrico, quedando con una concentración aproximada de 13,18 mg/L, posteriormente esta muestra es diluida dos veces para que quede ubicada en el rango de concentración de los patrones (1, 2, 4, 5, 6, 7 y 8 mg/L).

Dilución de la muestra natural M2

La segunda muestra denominada M2 con una concentración inicial de 27,1880 mg/L se prepara tomando 53,2 ml (con bureta), se adicionan 2,0 ml de una solución de KCl al 25 % y 1,0 ml de ácido clorhídrico al 37 % y se afora a 250 ml en un balón volumétrico, quedando con una concentración aproximada de 5,75 mg/L.

5.4.2 PREPARACION DE LAS SOLUCIONES ESTANDAR 0,9C Y 0,09C

Conociendo las concentraciones reales de las muestras de sulfato de aluminio (25,1880 y 27,0030 mg/L) se toma el valor de la concentración mayor (27,0030 mg/L) estableciendo este como el valor de C para la preparación de las soluciones estándar 0,9C y 0,09C

Las soluciones estándar 0,9C y 0,09C son solo una sugerencia que no es necesario cumplir con exactitud, funcionan como guía; con lo cual se busca un margen de error bajo en la preparación de los patrones, por lo que pueden usarse valores aproximados a los teóricos.

$$0,9C = 0,9 \times 27,1880 \text{ mg/L} = 24,3027 \text{ mg/L}$$

$$0,09C = 0,09 \times 27,1880 \text{ mg/L} = 2,43027 \text{ mg/L}$$

Teniendo en cuenta lo anteriormente citado se aproximan estos valores de concentración a valores enteros que son más convenientes a la hora preparar las soluciones, por ejemplo: $0,9C = 28 \text{ mg/L}$ y $0,09C = 3 \text{ mg/L}$.

Preparación de la solución estándar 0,9C (28 mg/L)

Se toman 28 ml de solución madre de 100 mg/L en un balón volumétrico de 100 ml, se adicionan 2,0 ml de una solución de KCl al 25 % y 1,0 ml de ácido clorhídrico al 37 % y se afora a volumen; posteriormente esta solución es diluida diez veces para que quede ubicada dentro del rango de concentración de los patrones de referencia (1, 2, 4, 5, 6, 7 y 8 mg/L).

Preparación de la solución estándar 0,9C (3 mg/L)

Se toman 30 ml de solución madre de 10 mg/L en un balón volumétrico de 100 ml, se adicionan 2,0 ml de una solución de KCl al 25 % y 1,0 ml de ácido clorhídrico al 37 % y se afora a volumen.

5.4.3 PREPARACION DE LAS SOLUCIONES ENRIQUECIDAS M1+A1 y M2+A2

Las soluciones enriquecidas constan de una muestra natural de sulfato de aluminio (M1 y M2) a las cuales se les ha adicionado un volumen determinado de una solución (A1 y A2) que contienen una concentración conocida del analito en estudio, para lo cual se hace uso del concepto de volúmenes aditivos, el cual establece que el volumen total de una solución es igual a la suma de los volúmenes parciales, lo cual se expresa como:

$$V1 \times C1 + V2 \times C2 = (V1 + V2) \times CF$$

$$V1 \times C1 + V2 \times C2 = VF \times CF$$

Donde:

- ❖ *V1 es el volumen en ml de las muestras naturales M1 y M2 utilizadas para la preparación de las muestras adicionadas.*
- ❖ *C1 es la concentración en mg/L de las muestras naturales M1 y M2 utilizadas para la preparación de las muestras adicionadas.*
- ❖ *V2 es el volumen en ml de las soluciones estandar denominadas A1 y A2 utilizadas para la preparación de las muestras adicionadas.*
- ❖ *C2 es la concentración en mg/L de las soluciones estandar A1 y A2 (1000 mg/L)*
- ❖ *VF es el volumen final en ml de la solución enriquecida M1 + A1 y M2 + A2, el cual consta de la suma de los volúmenes parciales de las soluciones M y A.*
- ❖ *CF es la concentración final en mg/L obtenida para las muestras adicionadas M1 + A1 y M2 + A2.*

Preparación de la solución enriquecida M1+A1

Para la preparación de las muestras enriquecidas se trata de gastar la mínima cantidad de solución estándar de 1000 mg/L de hierro, para lo cual se toman 5 ml para la preparación de ambas soluciones M1+A1 y M2+A2.

Para la preparación de la solución enriquecida M1+A1 se deben tomar por medio de una bureta 1,2 ml de los 5 ml tomados anteriormente de la solución estándar

de 1000 mg/L y se adiciona por medio de otra bureta 98,8 ml de la muestra natural M1 con lo cual se obtiene una solución M1+A1 con una concentración de:

$$C.M1 + A1 = \frac{(0,0988 L \times 13,18 mg/L) + (0,0012 L \times 1000 mg/L)}{(0,0988 + 0,0012) L}$$

$$C.M1 + A1 = 25,0218 mg/L \text{ de Fe}$$

Posteriormente esta solución es diluida cinco veces para que quede ubicada en el rango de concentración de los patrones de referencia.

Preparación de la solución enriquecida M2+A2

Para la preparación de la solución enriquecida M2+A2 se toman por medio de una bureta 2,1 ml de los 5 ml tomados anteriormente de la solución estándar de 1000 mg/L y se adiciona por medio de otra bureta 97,9 ml de la muestra natural M2 obteniéndose una solución M2+A2 con una concentración de:

$$C.M2 + A2 = \frac{(0,0979 L \times 5,75 mg/L) + (0,0021 L \times 1000 mg/L)}{(0,0979 L + 0,0021 L)}$$

$$C.M2 + A2 = 26,6292 mg/L \text{ de Fe}$$

Posteriormente esta muestra es diluida dos veces con lo cual quedará ubicada dentro del rango de concentración de los patrones de referencia.

6 RESULTADOS Y ANALISIS

6.1 CURVAS DE CALIBRACION DEL METODO

Tabla 2: Datos para la curva de calibración número 1 del método.

La tabla 2 muestra los datos de concentración y absorbancia para realizar la curva de calibración número 1 del método.

PATRON	CONCENTRACION (mg/L)	ABSORBANCIA
1	0,0000	0,000
2	1,0000	0,083
3	2,0000	0,149
4	4,0000	0,282
5	5,0000	0,346
6	6,0000	0,412
7	7,0000	0,472
8	8,0000	0,521

$$\text{Ecuación: } Y = 0,06523X + 0,0264$$

Tabla 3: Datos para la curva de calibración número 2 del método.

La tabla 3 muestra los datos de concentración y absorbancia para realizar la curva de calibración número 2 del método.

PATRON	CONCENTRACION (mg/L)	ABSORBANCIA
1	0,0000	0,000
2	1,0000	0,074
3	2,0000	0,144

4	4,0000	0,277
5	5,0000	0,337
6	6,0000	0,409
7	7,0000	0,468
8	8,0000	0,513

$$\text{Ecuación: } Y = 0,06483X + 0,0295$$

Tabla 4: Absorbancias obtenidas en el análisis de los 6 lotes.

La siguiente tabla presenta las absorbancias obtenidas para las 48 muestras, las cuales se encuentran divididas en 6 lotes.

MUESTRA	LOTE 1	LOTE 2	LOTE 3	LOTE 4	LOTE 5	LOTE 6
BK 1	0,002	0,002	0,001	0,003	0,004	0,003
BK 2	0,001	0,002	0,003	0,002	0,003	0,005
0,9C	0,131	0,128	0,130	0,135	0,131	0,132
0,90C	0,130	0,137	0,140	0,140	0,142	0,142
M1	0,293	0,303	0,304	0,304	0,307	0,307
M2	0,256	0,259	0,267	0,267	0,270	0,269
M1+A1	0,234	0,233	0,242	0,255	0,242	0,248
M2+A2	0,239	0,236	0,246	0,243	0,243	0,245

Para el análisis de resultados, es necesario tabular los datos de concentración obtenidos mediante la espectroscopia de absorción atómica y posteriormente introducirlos en el Software Kalibo con el fin de que éste arroje los de resultados experimentales del analito en estudio.

Tabla 5: Concentraciones en mg/L de hierro obtenidas en el análisis de los 6 lotes.

La siguiente tabla presenta las concentraciones obtenidas para las 48 muestras, las cuales se encuentran divididas en 6 lotes analizados durante 6 días.

MUESTRA	LOTE 1	LOTE 2	LOTE 3	LOTE 4	LOTE 5	LOTE 6
BK 1	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
BK 2	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
0,9C	2,8503	2,7422	2,7347	2,8767	2,7511	2,7683
0,09C	3,0594	2,9592	2,9461	2,9963	2,9888	2,9902
M1	6,5610	6,6389	6,5109	6,6151	6,6033	6,5987
M2	5,7356	5,6586	5,7789	5,7954	5,7947	5,7665
M1+A1	5,2288	5,0907	5,1682	5,5325	5,1684	5,3060
M2+A2	5,2124	5,1605	5,2384	5,2792	5,2104	5,2420

Tabla 6: Concentraciones en mg/L de hierro corregidas por el factor de dilución.

La tabla 6 reporta las concentraciones en mg/L de hierro corregidas por el factor de dilución correspondiente para cada una de las 48 muestras analizadas durante los 6 días de ensayos.

MUESTRA	LOTE 1	LOTE 2	LOTE 3	LOTE 4	LOTE 5	LOTE 6	(GMC)
(BK 1)	0	0	0	0	0	0	0
(BK 2)	0	0	0	0	0	0	0
(0,9C) × 10 =	28,5026	27,4217	27,3468	28,7618	27,5114	27,6833	27,8713
(0,09C)	3,0594	2,9592	2,9461	2,9963	2,9888	2,9902	2,0990
(M1) × 2 =	13,1221	13,2777	13,0218	13,2303	13,2067	13,1975	13,1760
(M2)	5,7356	5,6586	5,7789	5,7954	5,7947	5,7665	26,2455
(M1+A1) × 5 =	26,1439	25,4535	25,8414	27,6623	25,8418	26,5299	5,7550
(M2+A2) × 5 =	26,062	25,8027	26,1922	26,3959	26,0519	26,2102	26,1192

Para hallar la fila de **concertación (GMC)** se realiza el promedio de las concentraciones, su abreviatura **GMC** indica **Gran Media Corregida** y se calcula mediante la siguiente fórmula:

$$Xm = \sum_{i=1}^n Xi / n$$

Tabla 7: Tabulación de los datos de concentración de hierro en mg/L, para el análisis estadístico por parte del software validar 1.1.

Los datos tabulados en la tabla 7 deben ser ingresados en el Software Validar 1.1 con el fin de saber si las desviaciones estándar son aceptables y si la recuperación del método es o no satisfactoria.

	Constantes	<i>U</i>	<i>C</i>	<i>v</i>	<i>V</i>	
	M1	13,18	1000	1.2	98.8	
MUESTRA	LOTE1	LOTE2	LOTE3	LOTE4	LOTE5	LOTE6
BK1	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
BK2	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
0.9C	28,5026	27,4217	27,3468	28,7618	27,5114	27,6833
0.09C	3,0594	2,9592	2,9461	2,9963	2,9888	2,9902
M1	13,1221	13,2777	13,0218	13,2303	13,2067	13,1975
M1	5,7356	5,6586	5,7789	5,7954	5,7947	5,7665
M1+A1	26,1439	25,4535	25,8414	27,6623	25,8418	26,5299
M2+A2	26,0620	25,8027	26,1922	26,3959	26,0519	26,2102
	Constantes	<i>U</i>	<i>C</i>	<i>v</i>	<i>V</i>	
	M2	5,75	1000	2,1	97,9	

Donde:

- ❖ *U* es la concentración en mg/L de la muestra de sulfato de aluminio sin adición.
- ❖ *C* es la concentración en mg/L de la solución usada para la adición (CSA).
- ❖ *v* es el volumen en ml de CSA usado para la adicionar.
- ❖ *V* es el volumen en ml de la muestra natural de sulfato de aluminio a la cual se le hará la adición.

Nota: “CSA” es la concentración en mg/L de la solución usada para la adición, es decir, el volumen que se va a adicionar de “C”.

Tabla 8: Prueba para verificar si las desviaciones estándar son aceptables.

La tabla 8 reporta los valores de Se, St, GMC y W, necesarios para verificar si las desviaciones estándar son aceptables o no.

	BLANCO	0,9C	0,09C	M1	M2	M1+A1	M2+A2
St = Se, (St = Sd) para el testigo	Sd	Se	Se	Se	Se	Se	Se
	0,0000	0,6056	0,0393	0,0910	0,7813	0,0521	0,1991
St² = Se² + Sd²	0,0000	0.3667	0.0015	0.0083	0.6104	0.0027	0.0396
St	0,0000	0.6056	0.0393	0.0910	0.7813	0.0521	0.1991
Concentración (GMC)	0,0000	27.8713	2.0990	13.1760	26.2455	5.7550	26.1192
W (meta a alcanzar) 0,05 × GMC	0,0000	1.3936	0.1495	0.6588	1.3123	0.2877	1.3060
St < W ?	-	SI	SI	SI	SI	SI	SI

La última fila, ¿**St<W?** es el análisis de resultados de la tabla que realiza el software automáticamente.

Es positivo en el caso que W sea mayor que St.

Es negativo en el caso que W sea menor que St.

$$W(\text{meta a alcanzar}) = 0,05 \times GMC = 0,05 \times 27,871 = 1,394$$

DONDE:

St = Desviacion estandar total.

Se = Desviacion estandar entre lotes.

Sd = Desviacion estandar dentro de lotes.

Se² = Variansa entre lotes.

Sd² = Variansa dentro de lotes.

GMC = Concentracion Gran Media Corregida.

$W = \text{Meta a alcanzar.}$

$St < W = \text{Verifica si las desviaciones estandar son aceptables o no y estas son aceptables en el caso de que se cumpla la desigualdad.}$

Para obtener los valores de la tabla 8 el Software realiza el siguiente tratamiento estadístico, resumido a continuación mediante un ejemplo:

Tabla 9: Cálculo de la sumatoria de las columnas L y la sumatoria de las columnas x para la solución estándar 0,9C.

La tabla 9 presenta el cálculo de la sumatoria de las filas L y la sumatoria de las columnas x para la solución estándar 0,9C, necesarios para realizar un ejemplo de cómo realiza el tratamiento estadístico el Software Kalibo 1.2a.

	LOTE1	LOTE2	LOTE3	LOTE4	LOTE5	LOTE6	Suma de Filas ΣX
Prueba 1	28,503	27,422	27,347	28,762	27,511	27,683	167,228
Prueba 2	-	-	-	-	-	-	-
Σ Columnas L	28,503	27,422	27,347	28,762	27,511	27,683	167,228
						ΣL ²	4662,679
						Σx ²	4662,679
n = 1						ΣL ² /n	4662,679
m = 6						(ΣL) ² /mxn	4660,845

n = numero de replicas.

m = numero de lotes.

Donde:

- ❖ L representa la sumatoria de los valores de concentración para cada lote, de la solución estándar 0,9C.
- ❖ X representa la sumatoria de los valores de concentración para todos los lotes, de la solución estándar 0,9C.

Nota: los datos usados para este ejemplo son los de la tabla 7 que corresponden a la solución estándar 0,9C.

FUENTES DE VARIACION:

$$\text{Errores Entre Lotes } SSe = \frac{\sum L}{n} - \frac{(\sum L)^2}{n \times m} = \frac{4662,679}{1} - \frac{(167,228)^2}{1 \times 6} = 1,834$$

$$\text{Error Dentro de Lotes } SSd = \sum X^2 - \frac{\sum L^2}{n} = 4662,679 - 4662,679 = 0,000$$

$$\text{Error Total } SSt = \sum X^2 - \frac{(\sum L)^2}{n \times m} = 4662,679 - 4660,845 = 1,834$$

GRADOS DE LIBERTAD:

$$\text{Grdos de libertad Entre Lotes } Ve = m - 1 = 6 - 1 = 5$$

$$\text{Grdos de libertad Dentro de Lotes } Vd = m(n - 1) = 6(2 - 1) = 6$$

$$\text{Grdos de libertad Totales } Vt = (mn) - 1 = (6 \times 2) - 1 = 11$$

DONDE:

$n = \text{Numero de replicas.}$

$m = \text{Numero de lotes.}$

CUADRADOS MEDIOS:

$$SMe = \frac{SSe}{Ve} = \frac{1,834}{5} = 0,367$$

$$SMd = \frac{SSd}{Vd} = \#i \text{ DIV } 0!$$

DONDE:

$SMe = \text{Cuadrados medios entre lotes.}$

$SMd = \text{Cuadrados medios dentro de lotes.}$

$SSe = \text{Errores entre lotes.}$

$SSd = \text{Errores dentro de lotes.}$

$Ve = \text{Grados de libertad entre lotes.}$

$Vd = \text{Grados de libertad dentro de lotes.}$

VALORES PARA LA TABLA 8:

$$Se = \sqrt{SMe} = \sqrt{0,3667} = 0,606$$

$$Sd = \sqrt{SMd} = \#_i \text{ DIV}/0!$$

$$St^2 = Se^2 + Sd^2$$

$$St^2 = (0,6055)^2 = 0,367$$

$$St = 0,606$$

DONDE:

Se = Desviación estandar entre lotes.

Sd = Desviación estandar dentro de lotes.

St² = Variansa total.

St = Desviación estandar total.

Tabla 10: Datos para la evaluación de la recuperación de la adición estándar A1.

La tabla 10 presenta los datos necesarios para la evaluación de la recuperación de la adición estándar A1 para la muestra natural M1.

MUESTRA ADICIONADA (M1+A1) - MUESTRA SIN ADICION M1						
PRUEBA	LOTE 1	LOTE 2	LOTE 3	LOTE 4	LOTE 5	LOTE 6
M1+A1	26,1439	25,4535	25,8414	27,6623	25,8418	26,5299
M1	13,1221	13,2777	13,0218	13,2303	13,2067	13,1975
(M1+A1)-M1=A1	13,0218	12,1758	12,8196	14,4320	12,6351	13,3324
(A1) ²	169,5673	148,2501	164,3421	208,2826	159,6458	177,7529

La **recuperación** es la capacidad que tiene un procedimiento analítico para determinar cuantitativamente una especie química que ha sido adicionada a una muestra.

$$\Sigma A1 = 78,4167$$

$$\Sigma(A1)^2 = 1027,8408$$

La varianza S , se calcula llevando a cabo las siguientes operaciones, utilizando los valores de A1 tabulados en la tabla 11.

$$S = \sqrt{\left| \Sigma(A1)^2 - \frac{(\Sigma A1)^2}{6} \right| \div 5} = \sqrt{\left| 1027,8408 - \frac{(78,4167)^2}{6} \right| \div 5} = 0,7717$$

Calculo de la recuperación:

$$R(\text{recuperacion experimental}) = \frac{\Sigma A1}{6} = \frac{78,4167}{6} = 13,0690 \approx 13,07$$

$$\text{Recuperacion Teorica (d)} = v \times \frac{C - U}{V + v}$$

$$d = 1,2 \times 10^{-3} \text{ L} \times \frac{(1000 \text{ mg/L} - 13,18 \text{ mg/L})}{(98,8 + 1,2) \times 10^{-3} \text{ L}} = 11,8418 \text{ mg/L} \approx 11,84 \text{ mg/L}$$

Donde:

- ❖ U es la concentración en mg/L de la muestra de sulfato de aluminio sin adición.
- ❖ C es la concentración en mg/L de la solución usada para la adición (CSA).
- ❖ v es el volumen en ml de CSA usado para la adicionar.
- ❖ V es el volumen en ml de la muestra natural de sulfato de aluminio a la cual se le hará la adición.

Nota: “CSA” es la concentración en mg/L de la solución usada para la adición, es decir, el volumen que se va a adicionar de “C”.

Calculo de los parámetros A y B:

$$A = (1,05 \times d) + \left(\frac{S}{\sqrt{6}} \times 2,01 \right)$$

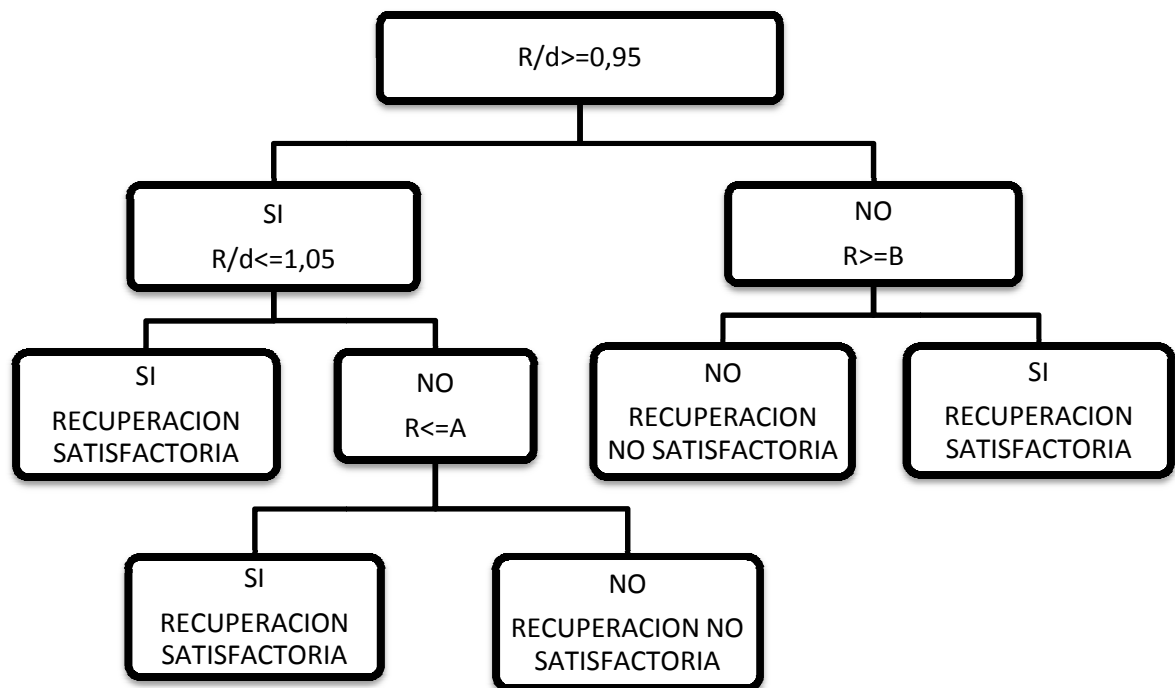
$$A = (1,05 \times 11,8418) + \left(\frac{0,7717}{\sqrt{6}} \times 2,01 \right) = 13,0670 \approx 13,07$$

$$B = (0,95 \times d) - \left(\frac{S}{\sqrt{6}} \times 2,01 \right)$$

$$B = (0,95 \times 11,842) - \left(\frac{0,7717}{\sqrt{6}} \times 2,01 \right) = 10,6150 \approx 10,62$$

El siguiente esquema se utiliza para verificar si la recuperación de la adición estándar A1 es satisfactoria o no.

A=13,07		B=10,62
R=13,07	d=11,84	R/d=1,104



La primera celda a observar en este esquema es la que indica el valor de R/d y a continuación se debe “responder” a las preguntas que hace el cuadro con base en ese resultado. Es decir, si $R/d \geq 0,95$ es verdadero y $R/d \leq 1,05$ también es verdadero, entonces la recuperación es satisfactoria.

De lo contrario se pueden presentar las siguientes situaciones, para las cuales se deben tener en cuenta los valores de R/d , A y B .

- Se debe entonces “responder” si $R \geq B$, en el caso de que esto sea afirmativo la recuperación es satisfactoria.
- Se debe “responder” si $R \leq A$, en el caso afirmativo la recuperación es satisfactoria.

Tabla 11: Datos para la evaluación de la recuperación de la adición estándar A2.

La tabla 11 presenta los datos necesarios para la evaluación de la recuperación de la adición estándar A2, para la muestra natural M2.

MUESTRA ADICIONADA (M2+A2) - MUESTRA SIN ADICION M2						
PRUEBA	LOTE 1	LOTE 2	LOTE 3	LOTE 4	LOTE 5	LOTE 6
M2+A2	26,0620	25,8027	26,1922	26,3959	26,0519	26,2102
M2	5,7356	5,6586	5,7789	5,7954	5,7947	5,7665
(M2+A2)-A2=A2	20,3264	20,1441	20,4133	20,6005	20,2572	20,4437
(A2)²	413,1625	405,7847	416,7028	424,3806	410,3541	417,9448

$$\Sigma A2 = 122,1852$$

$$\Sigma (A2)^2 = 2488,3295$$

La varianza S , se calcula llevando a cabo los siguientes cálculos, utilizando los valores de A2 de la tabla 12.

$$S = \sqrt{\left| \Sigma (A2)^2 - \frac{(\Sigma A2)^2}{6} \right| \div 5} = \sqrt{\left| 2488,3295 - \frac{(122,1852)^2}{6} \right| \div 5} = 0,1586$$

Calculo de la recuperación:

$$R(\text{recuperacion experimental}) = \frac{\Sigma A2}{6} = \frac{122,1852}{6} = 20,3642 \approx 20,36$$

$$\text{Recuperacion Teorica } (d) = v \times \frac{C - U}{V + v}$$

$$d = 2,1 \times 10^{-3} L \times \frac{(1000 \text{ mg/L} - 5,75 \text{ mg/L})}{(97,9 + 2,1) \times 10^{-3} L} = 20,8792 \approx 20,88$$

Calculo de los parámetros A y B:

$$A = (1,05 \times d) + \left(\frac{S}{\sqrt{6}} \times 2,01 \right)$$

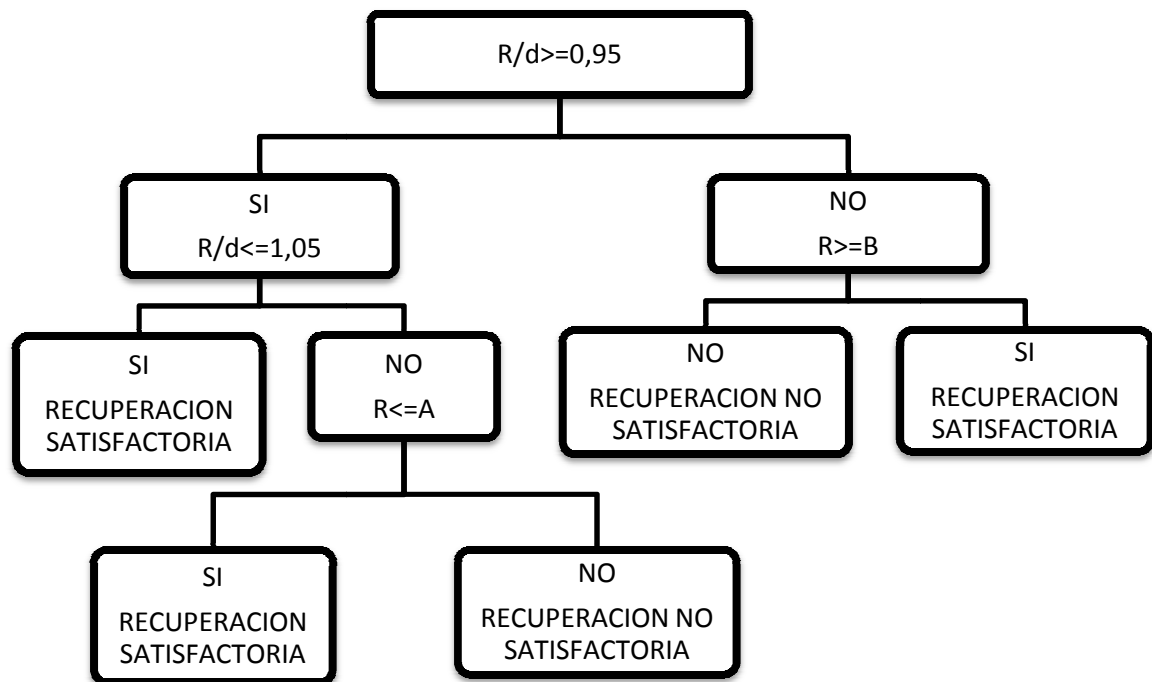
$$A = (1,05 \times 20,879) + \left(\frac{0,1586}{\sqrt{6}} \times 2,01 \right) = 22,0524 \approx 22,05$$

$$B = (0,95 \times d) - \left(\frac{S}{\sqrt{6}} \times 2,01 \right)$$

$$B = (0,95 \times 20,879) - \left(\frac{0,1586}{\sqrt{6}} \times 2,01 \right) = 19,7051 \approx 19,70$$

El siguiente esquema se utiliza para verificar si la recuperación de la adición estándar A2 es satisfactoria o no.

A=22,05		B=19,70
R=20,36	d=20,88	R/d=0,975



En el que nuevamente la primera celda a observar en el esquema es la que indica el valor de R/d y a continuación se debe “responder” a las preguntas que hace el cuadro con base en ese resultado. Es decir, si $R/d \geq 0,95$ es verdadero y $R/d \leq 1,05$ también es verdadero, entonces la recuperación es satisfactoria.

De lo contrario se pueden presentar las siguientes situaciones, para las cuales se deben tener en cuenta los valores de R/d , de A y de B .

- a) Se debe entonces “responder” si $R \geq B$, en el caso de que esto sea afirmativo la recuperación es satisfactoria.

- b) Se debe “responder” si $R \leq B$, en el caso afirmativo la recuperación es satisfactoria.

Adicionalmente, los datos obtenidos en la presente validación permiten hallar los siguientes atributos del método:

6.1.1 MEDIA DE LOS BLANCOS

La **media de los blancos** es el promedio aritmético de las concentraciones, o sea, el cociente entre la suma de todas las concentraciones y el número de ellas

$$Xm = \sum_{i=1}^n Xi / n = \sum_{i=1}^{12} Xi / 12$$

$$Xm = 0 \text{ mg/L de hierro}$$

6.1.2 DESVIACION ESTANDAR PARA LOS BLANCOS

La **desviación estándar** es una medida de la dispersión de los valores alrededor de la media en una distribución de valores. La desviación estándar St para los blancos se calcula mediante la siguiente fórmula:

$$S_t = \sqrt{\sum_{i=1}^n (X_i - X_m) / (n - 1)} = \sqrt{\sum_{i=1}^{12} (X_i - 0) / (12 - 1)}$$

$$S_t = 0 \text{ mg/L de hierro}$$

6.1.3 LIMITE DE DETECCION DEL METODO

El límite de detección es la mínima concentración de analito que se puede detectar en una muestra, pero no necesariamente cuantificar bajo las condiciones estipuladas para el ensayo.

El límite de detección es un número, expresado en unidades de concentración que describe el más bajo nivel de concentración de una sustancia que puede determinarse como estadísticamente diferente del blanco. Otra definición que se utiliza frecuentemente es que el límite de detección es igual al promedio del blanco, X_m , más tres veces la desviación estándar del blanco, S_t , debido a que en algunos métodos no siempre es posible detectar una respuesta analítica de la solución estándar de más baja concentración para calcular estos límites.

Así, usando la desviación estándar total S_t :

$$\text{LIMITE DE DETECCION} = X_m + (3 \times S_t)$$

$$\text{LIMITE DE CUANTIFICACION} = X_m + (10 \times S_t)$$

Nota: Si existe una respuesta analítica para el blanco y este es determinado en cada lote, el promedio del blanco es incluido en la fórmula y la desviación estándar dentro del lote S_w en lugar de la desviación estándar total S_t , es usada en el cálculo de los mencionados límites.

$$LDM = X_m + (3 \times S_t) = 0 + (3 \times 0)$$

$$LDM = 0 \text{ mg/L de hierro}$$

6.1.4 LIMITE DE CUANTIFICACION DEL METODO

*El **límite de cuantificación** es la mínima concentración de un analito que se puede determinar con aceptable repetibilidad y exactitud bajo las condiciones estipuladas para un ensayo.*

Los límites de medición cuantitativa son características de rendimiento que denotan la capacidad de un proceso de medición química para ‘cuantificar’ adecuadamente un analito. El límite de detección es igual al promedio del blanco X_m , más 10 veces la desviación estándar del blanco, S_t .

$$LCM = X_m + (10 \times S_t) = 0 + (10 \times 0)$$

$$LCM = 0 \text{ mg/L de hierro}$$

6.1.5 CALCULO DE LA EXACTITUD

INEXACTITUD

La **inexactitud** es el porcentaje de error entre el valor teórico del analito adicionado a cada una de las muestras y el valor real.

Para el cálculo de la inexactitud se utilizan los datos de la recuperación para cada una de las muestras M_1 y M_2 .

$$\text{Inexactitud} = \frac{|d - R|}{d} \times 100$$

$$R_{M1+A1} = 13,07$$

$$d_{M1+A1} = 11,84$$

$$\text{Inexactitud}_1 = \frac{|11,84 - 13,07|}{11,84} \times 100$$

$$\text{Inexactitud}_1 = 10,39$$

$$R_{M2+A2} = 20,36$$

$$d_{M2+A2} = 20,88$$

$$\text{Inexactitud}_2 = \frac{|20,88 - 20,36|}{20,88} \times 100$$

$$\text{Inexactitud}_2 = 2,49$$

$$\text{Inexactitud del método} = \frac{10,39 + 2,49}{2} = 6,44\%$$

EXACTITUD

La **exactitud** es el grado aproximación entre un valor obtenido experimentalmente y un valor real aceptado; normalmente se expresa en términos de error; se calcula promediando las inexactitudes y haciendo la diferencia con el 100%, que es el valor máximo e exactitud.

$$\text{Exactitud} = 100 - \text{Inexactitud}$$

$$\text{Exactitud} = 100 - 6,44 = 93,56\%$$

6.1.6. SENSIBILIDAD

La **sensibilidad** es la pendiente de la curva de calibración del método.

$$\text{Sensibilidad} = \text{pendiente}$$

La **sensibilidad** es una medida del factor de respuesta del instrumento como una función de la concentración del analito. Normalmente se mide como la

pendiente de la curva de calibración del método. Como valor se reporta el promedio para las curvas de calibración desarrolladas en esta validación.

Ecuación 1: $Y = 0,06523X + 0,0264$

Ecuación 2: $Y = 0,06483X + 0,0295$

$$S(\text{Sensibilidad}) = \frac{0,06523 + 0,06483}{2} = 0,06503$$

Tabla 13: Resumen de los atributos del método.

La tabla 13 presenta un resumen de los valores de los atributos del método obtenidos, para la determinación del contenido de hierro en muestras de sulfato de aluminio granulado tipo B.

Media de los blancos	X_m	0 mg/L Hierro
Desviación estándar para el blanco	S_t	0 mg/L Hierro
Limite de detección	LDM	0 mg/L Hierro
Limite de cuantificación	LCM	0 mg/L Hierro
Exactitud	$\%Ex$	93,56%
Sensibilidad	S	0,06503 Δ Abs/mg/L Hierro

7 CONCLUSIONES

- ❖ La validación de una metodología analítica es un proceso altamente importante a la hora de verificar que los parámetros de rendimiento de una técnica analítica empleada son o no aceptables.
- ❖ La validación de una técnica analítica utilizando en software Kalibo permite hallar de una manera fácil y rápida los resultados de la recuperación, la media para los blancos, la desviación estándar para los blancos, el límite de detección, el límite de cuantificación, la exactitud y la sensibilidad.
- ❖ Teniendo en cuenta los resultados obtenidos en la evaluación de la recuperación de las adiciones hechas a las muestras naturales, se puede concluir que la técnica analítica empleada (Espectroscopia de Absorción Atómica) arroja resultados satisfactorios para la determinación del contenido de hierro en muestras de sulfato de aluminio granulado tipo B.
- ❖ El Software Kalibo 1,2a de validación de métodos químicos, es una herramienta eficaz y fácil de usar una vez el analista se ha familiarizado con su funcionamiento.

8 RECOMENDACIONES

- ❖ Antes de comenzar el proceso experimental, se deben realizar los cálculos teóricos necesarios para así determinar mediante un análisis preliminar, la concentración del analito en la muestra.
- ❖ En lo posibles, seguir un instructivo detallado para el desarrollo de la validación de una técnica analítica, con el fin de evitar posibles errores en el desarrollo de la misma.
- ❖ Utilizar el software Kalibo 1.2a de validación de métodos químicos para la validación de otras metodologías utilizadas por el Laboratorio de Aguas y Alimentos de la Universidad Tecnológica de Pereira.

BIBLIOGRAFÍA

- [1] Protocolo Estandarización de Métodos Analíticos, Instituto de Hidrología, meteorología y estudios ambientales, IDEAM.
- [2] Técnicas de Laboratorio, Validación de Métodos Analíticos,

número 252, Junio del año 2000, paginas 382 – 383.

- [3] Norma técnica colombiana 531 (quinta revisión).

- [4] RECOMENDACIONES ARMONIZADAS PARA LA VALIDACIÓN DE MÉTODOS DE ANÁLISIS EN UN SOLO LABORATORIO.
<http://docs.google.com/gview?a=v&pid=gmail&attid=0.3&thid=12194a4bd56f453d&mt=application%2Fpdf>.

- [5] Octavo curso-taller, Validación de métodos analíticos. Instituto Nacional de Salud. Bogotá D.C; Septiembre 5-9 de 2005.

- [6] Espectroscopia de Absorción Atómica. <http://www.fao.org/docrep/field/003/ab482s/ab482s04.htm>

- [7] Instructivo de Validación de Metodologías Analíticas, para el Laboratorio de Aguas y Alimentos de la Universidad Tecnológica de Pereira.